

## 口腔癌の進展ならびにリンパ節転移における 組織肥満細胞の臨床的・実験的研究

武 田 進

信州大学医学部歯科口腔外科学教室  
(主任: 小谷 朗教授)

### Clinical and Experimental Studies on Tissue Mast Cells Influencing the Development of Oral Carcinomas and Metastasis to Lymph Nodes

Susumu TAKEDA

*Department of Dentistry and Oral Surgery, Shinshu University School of Medicine  
(Director: Prof. Akira KOTANI)*

Tissue mast cells (TMC) were studied morphologically with toluidine blue stains in the sub-epithelial tissues of 20 oral leukoplakia patients (12 males, 8 females), in the stromas and the cervical lymph nodes of 33 oral carcinoma patients (20 males, 13 females) and in the cervical lymph nodes of Donryu rats transplanted AH 130. The results were as follows:

- 1) When leukoplakia cases were classified clinically into simple leukoplakias, precancerous leukoplakias and carcinomas transformed from leukoplakias, the numbers of TMC showed remarkable differences; in particular, simple leukoplakias had more TMC than others.
- 2) As metastasis to the cervical lymph nodes advanced, numbers of TMC were decreased and morphological changes in stained TMC were observed; the cases with decreased numbers of TMC experienced metastasis in early stages.
- 3) In the cervical lymph nodes of carcinoma patients and Donryu rats, TMC were localized in lymph sinuses.
- 4) Cases with increased numbers of TMC and with clearly stained TMC had a good prognosis, whereas cases with decreased numbers of TMC and with degenerated TMC had a poor prognosis.
- 5) TMC have an important influence on the development of oral carcinomas and their metastasis to lymph nodes. *Shinshu Med. J.*, 34: 316—329, 1986

(Received for publication January 21, 1986)

---

**Key words:** tissue mast cell, toluidine blue stain, leukoplakia, oral carcinoma, sinus histiocytosis of lymph node

組織肥満細胞, トルイジンブルー染色, 白板症, 口腔癌, リンパ節洞組織球症

---

## I 緒 言

1877年, Ehrlich によって発見された組織肥満細胞 tissue mast cells (以下 TMC と略す) は, 塩基性色素によりメタクロマジーを呈する顆粒をその胞体内に持ち, ひろく粘膜, 皮膚などの結合組織内に分布している<sup>1)</sup>。その本態は, 長い間不明のままであったが, ここ数10年間にわたる形態学的, 生化学的ならびに薬理学的研究の結果, 次第に明らかにされて来た<sup>2)-6)</sup>。なかでも胞体内顆粒にヘパリン, コンドロイチン硫酸などの酸性粘液多糖類, ヒスタミン, セロトニンなどの活性アミン類, その他各種酵素が含まれていることが判明し<sup>1)3)5)</sup>, 一種の内分泌細胞であることが指摘されるにいたった<sup>1)2)</sup>。そこで新たな観点より注目されるところとなり, 特に最近, I型アレルギーの発生機序が解明されるにつれ, TMCがI型アレルギーと密接に関係していることが明らかにされて来た<sup>7)8)</sup>。

一方, 古くから腫瘍性疾患の周辺組織内で TMC が特異な動態を示すことが注目され, 今までに子宮頸癌<sup>9)</sup>, 乳癌<sup>10)</sup>, 消化器癌<sup>11)</sup>, 軟部腫瘍<sup>12)</sup>, 骨腫瘍<sup>13)</sup>, 口腔粘膜病変<sup>14)15)</sup>などで, TMC の出現頻度およびその動態が報告されて来た。それらによると上皮内癌のような初期癌の周辺組織内には多数の TMC が集積し, その状態は進行癌, 末期癌に比し有意に多く<sup>2)5)9)</sup>, 腫瘍間質では, 腫瘍実質より離れた組織内の方に TMC 量が多く<sup>16)17)</sup>, リンパ節では, 6ヵ月以上生存した患者の方が非生存者と比較して TMC 数が多かったとしている<sup>10)</sup>。TMC の抗腫瘍作用についての研究は実験癌についても行われ, DMBA などの塗布による実験でも, 発癌部周辺組織中の TMC は, 癌形成に到らない上皮過形成のそれより少なく<sup>18)-20)</sup>, 誘発され難い実験動物の皮膚の方が易誘発動物の皮膚よりその数が多かったとしている<sup>21)22)</sup>。また, 組織培養などを駆使した *in vitro* の実験で, 脱顆粒に伴って放出される顆粒内化学物質の抗腫瘍作用を検索した結果, ヘパリンならびにセロトニンに抗腫瘍効果が確認された<sup>23)</sup>。ことに近年, ヘパリンの持つ抗凝固性, 膜透過性, 荷電作用, 結合織増生作用が, 発癌, 癌増殖および転移に抑制的に働くとする報告が注目されるようになって来た<sup>24)25)</sup>。しかし, 以上のような癌化防止, 癌進展防止機構を TMC が持つとする意見<sup>2)9)10)16)17)</sup> のほかに癌促進作用があるとする意見<sup>8)26)27)</sup> や, 単なる上皮の変化に対する反応にすぎないとする意見<sup>28)</sup> もあり, いまだ完全な意見の一致はみられていない。そこで著者は

前癌病変とされている口腔粘膜白板症と白板症より癌化した症例, 口腔癌のリンパ節転移症例などを対象として, 口腔癌の進展ならびにリンパ節転移形成における TMC の役割について, 臨床的ならびに実験的な研究を行い, 興味ある知見を得たので報告する。

## II 研究対象ならびに研究方法

### A 臨床的研究

1) 口腔粘膜白板症について: 1970年より1983年までの14年間に, 信州大学医学部附属病院歯科口腔外科を受診し, 組織型の確定した口腔粘膜白板症20例を対象とした。白板症を西山の分類<sup>29)</sup>に従い, 第1, 第2期は慢性刺激に伴う白色角化症の状態, 第3期は上皮過形成の状態, 第4期は異形成ないしは異角化を呈し前癌状態の白板症と分類し, さらに経過観察中, 癌化した白板症を加え, これら第1, 第2, 第3期の白板症, 前癌状態の白板症, 癌化症例の3者間における生検材料および切除標本の上皮下組織中の TMC の状態を, 白板症の病理組織学的分類別, 上皮下の炎症性浸潤細胞の程度とともに比較検討した。なお, 上皮の異形成ならびに異角化の組織学的基準は WHO の基準<sup>30)</sup>に基づいて行った。

2) 口腔癌症例について: 1972年より1980年までの9年間に, 信州大学医学部附属病院歯科口腔外科で処置した口腔扁平上皮癌50例中, 臨床的ならびに甲状腺注入頸部リンパ系造影法によって頸部リンパ節転移を疑い, 頸部リンパ節郭清術を施行した33例のリンパ節430個を対象とし, リンパ節内 TMC と転移状態, さらに症例の予後(1981年12月31日時点)との関連について検索した。さらに, 各種術前治療後に原発巣切除術を行った29例について, 各種術前治療が原発巣周辺組織内 TMC に与える影響について検討するとともに, 症例の予後と術前治療により変化した TMC との関係についても検討した。予後分類および頸部リンパ節レベル分類は, 頭頸部癌取扱規規約<sup>31)</sup>および UICC 案<sup>32)</sup>に基づいて行った。

### B 実験的研究

本実験に使用した動物はドンリュウラットの雄(5週齢から7週齢, 体重150g~200g, 静動協)で, 当大学中央実験動物室にて, 固形飼料と水を与えて飼育した。実験腫瘍としてはリンパ節転移モデル作製に適したラット腹水肝癌 AH 130を用いた。AH 130をラットの腹水中で継代培養し, 7日目ごとに腹水を採取した。その 0.05ml ( $10^5 \sim 10^6$  cells) をツベルクリン用

注射器を用いて、ラット上顎歯肉頬移行部に注入移植し、移植局所および頸部リンパ節の変化を肉眼的に観察するとともに、注入移植後2日目より経目的に2〜3匹づつ頸部リンパ節を摘出して、リンパ節内TMCと腫瘍の転移状態を組織学的に検索した。またヒスタミン遊離物質である compound 48/80 (Sigma Chemical Co.) 50 $\mu$ g をラット腹腔内に投与し、TMCの脱顆粒と転移との関係についても検討した。Compound 48/80の投与方法は各5匹づつのラットにAH130と同時投与、移植前5日連続投与および移植後5日連続投与とした。AH130は明治製菓株式会社薬理安全性研究所化学療法部(久松充室長)で継代培養されたものを使用した。

C TMCの検索方法

1) TMCの検出方法：原発巣の切除材料および生検材料はほぼ正中断し、リンパ節は半割して10%ホルマリン溶液に固定した。パラフィン包埋後、5 $\mu$ mの切片を作成し、0.05% トルイジンプルー染色液(pH 4.1)にて5分間染色した。TMCの顆粒および核は赤紫色から青紫色にメタクロマジーを示した(図1)。また、一部については high iron diamin-Alcian blue pH 2.5, (HID-AB pH 2.5) 染色<sup>33)</sup>も行った。なお、通常のヘマトキシリン・エオジン(H.E)染色にて上皮、上皮下結合組織、リンパ節転移の有無ならびに腫瘍間質の状態も観察した。

2) TMCの算定方法：TMCが比較的多く集積している標本の5視野を任意に選択して、400倍拡大1/10mm接眼方眼マイクロメーター中のTMCを算出した。その総計および平均値を1症例(白板症症例、口腔癌の原発巣)および1リンパ節(リンパ節転移症例)あたりにそれぞれ換算して求めた。

3) TMCの形態分類：小代らの分類<sup>34)</sup>に従い、細胞内顆粒や核の染色態度により、I型、II型およびIII型に分類した。すなわち、I型は、細胞質が濃染されて顆粒と核が識別できないもの、II型は、細胞質に空胞化や破壊像などの変化がみられるもの、III型は、顆粒および核がはっきり区別されたものとした。

III 研究結果

A 臨床的研究

1) 口腔粘膜白板症について：口腔白板症20例の内訳は男性12人、女性8人であり、年齢別では白板症の好発年齢とされる40歳代、50歳代、60歳代に多く、その平均年齢は59歳であった(表1)。発生部位は舌粘

表1 口腔白板症の年齢別・性別分布

年 齢	男 性	女 性
30 ~ 39		1
40 ~ 49	3	
50 ~ 59	4	2
60 ~ 69	4	3
70 ~ 79		2
80 ~ 89	1	
計	12	8

平均年齢59歳

表2 口腔白板症の発生部位と発症様式<sup>35)</sup>

発症様式 発生部位	単発性	多発性	多中心性	計
舌 粘 膜	6	1	2	9
頬 粘 膜	5			5
歯 肉	2	2		4
口腔底粘膜	1			1
口蓋粘膜	1			1
計	15	3	2	20

表3 口腔白板症の病理組織学的分類<sup>29)</sup>と臨床視診像<sup>35)</sup>との関係

視診像 病理分類	白斑型	紅斑型	白色乳頭腫型	計
第 1 期	3	1	1	5
第 2 期	2	2	1	5
第 3 期	5		1	6
第 4 期	1	3		4
計	11	6	3	20

膜9例、頬粘膜5例、歯肉4例、口腔底粘膜、口蓋粘膜各1例であり、天笠ら<sup>35)</sup>の分類による発症様式では単発性が15例と多く、多発性、多中心性もそれぞれ3例および2例を数えた(表2)。病理組織学的分類では第1期5例、第2期5例、第3期6例、第4期4例であり、第4期の白板症中3例が治療を開始してからそれぞれ1ヵ月後、5ヵ月後、14ヵ月後の生検で高分化型扁平上皮癌の組織診断を得た。この3例はともに紅斑型の臨床視診像を示していた(表3)。全白板症20

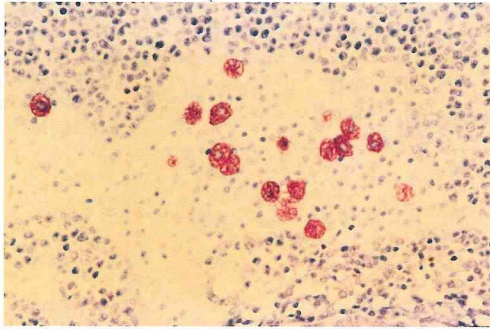


図1 肥満細胞は赤紫色のメタクロマジーを呈している（ラットリンパ節）。トルイジンブルー染色（pH4.1, 0.05%染色液濃度, 5分間染色）強拡大

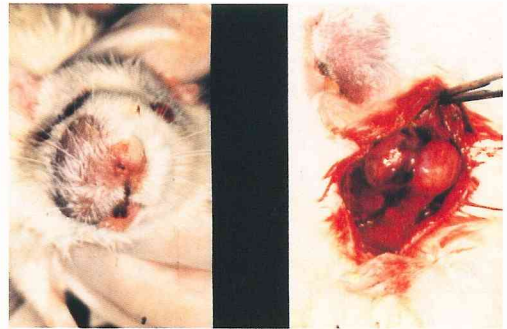


図3 AH 130 移植4日後のドンリュウラットの上顎と頸部リンパ節所見。

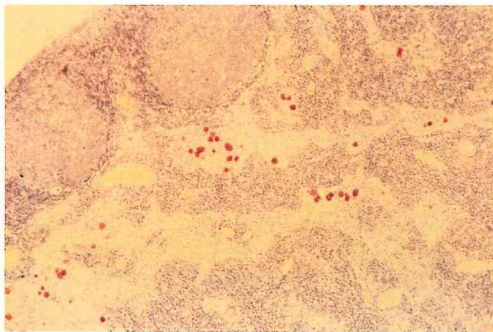


図4 AH 130 移植2日後のラット頸部リンパ節組織所見：リンパ小節，辺縁洞の形態がよく保たれ，洞内にメタクロマジー陽性の肥満細胞を認める。（トルイジンブルー染色弱拡大）

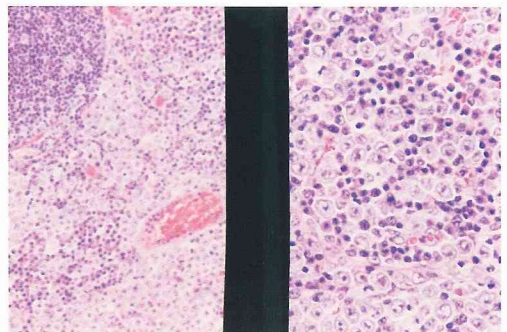


図5 AH 130 移植4日後のラット頸部リンパ節組織所見：洞が不鮮明となり，移植腫瘍細胞が出現している。（H,E 染色中拡大・その1部強拡大）

例における癌化率は15%であった。上皮結合組織中の浸潤細胞は、TMCのほかにリンパ球、形質細胞などが観察されたが、主体をなしたリンパ球浸潤の程度を白板症の病理組織学的分類およびTMCと対比した。第1、第2、第3期の白板症は全例、リンパ球浸潤が

中等度以下であり、特に慢性刺激に伴う第1期、第2期の白色角化症にはリンパ球浸潤のまったくみられないものが4例あった。それに反し、前癌状態である第4期および3例の癌化症例では全例リンパ球の浸潤が高度であった（表4）。TMCは中等度浸潤まではほぼ

表4 口腔白板症の病理組織学的分類<sup>29)</sup>とリンパ球浸潤\*との関係

リンパ球浸潤 病理分類	-	+	++	+++	計
第1期	1	2	2		5
第2期	3	1	1		5
第3期		3	3		6
第4期				4	4
癌化症例				3	3
計	4	6	6	7	23

\* 上皮下結合組織内のリンパ球浸潤の程度  
 - : リンパ球浸潤がまったくみられないもの  
 + : リンパ球浸潤が軽度のもの  
 ++ : リンパ球浸潤が中等度のもの  
 +++ : リンパ球浸潤が高度のものや、リンパ濾胞が出現しているもの

表6 口腔白板症の病理組織学的分類<sup>29)</sup>と肥満細胞数の関係

肥満細胞数 病理分類 (症例数)	5視野中の肥満細胞総数	1症例あたりの5視野中の肥満細胞数
第1期(5)	186	37.2
第2期(5)	111	22.2
第3期(6)	161	26.8
第4期(4)	58	14.5
計 (20)	516	25.8
癌化症例(3)	12	4.0

表5 口腔白板症におけるリンパ球浸潤と肥満細胞数の関係

リンパ球浸潤 (症例数)	肥満細胞数	5視野中の肥満細胞総数	1症例あたりの5視野中の肥満細胞数
- (4)		105	26.3
+ (6)		164	27.3
++ (6)		189	31.5
+++ (7)*		70	10.0
計 (23)		528	

\* 癌化症例3例を含む

表7 口腔癌の年齢別・性別分布

年齢(歳)	性		計
	男	女	
30 ~ 39	2		2
40 ~ 49	3	1	4
50 ~ 59	8	4	12
60 ~ 69	4	6	10
70 ~ 79	3	2	5
計	20	13	33

平均年齢58.6歳

表8 口腔癌の部位別分類とT分類<sup>32)36)</sup>の関係

部位	T分類	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	分類不能	計
	舌		1	4	5		
上顎洞			5	4			9
下顎歯肉				4	3		7
上顎歯肉			1		1		2
頬粘膜			1	1			2
口腔底粘膜			1				1
下顎中心性						2	2
計		1	12	14	4	2	33

表9 リンパ節レベル分類<sup>32)</sup>と肥満細胞数との関係

レベル分類	リンパ節数		総肥満細胞数		1リンパ節あたりの肥満細胞数	
	転移	無転移	転移	無転移	転移	無転移
L <sub>1</sub>	28	81	55	775	2.0	9.6
L <sub>2</sub>	24	119	23	1083	0.95	9.1
L <sub>3</sub>	20	71	19	823	0.95	11.6
L <sub>4</sub>	8	79	16	1614	2.0	20.4
計	80	350	113	4295	1.4	12.3

一定した増加の傾向を示していたが(26.3~31.5個/1症例)、第4期および癌化症例のリンパ球浸潤、高度な例ではむしろ減少していた(10.0個/1症例)(表5)。白斑症の病理組織学的分類とTMCの関係については、慢性刺激に伴う白色角化症の第1、第2期のTMC数は、それぞれ37.2個/1症例、22.2個/1症例、平均29.7個/1症例であり、第3期でも26.8個/1症例と第3期まではほぼ同様の数値を示していた。前癌病変である第4期では14.5個/1症例と低く、癌化症例ではさらに4.0個/1症例と低くなっていた(表6)。TMCの形態も第4期、癌化症例に細胞内顆粒の空胞化や破壊像などがみうけられた。癌化しなかった第4期の1例は白斑型の臨床像を示し、TMCも28.0個/1症例と高値を示していた。

2) 口腔癌症例について：33例の内訳は男性20人、女性13人と男性にやや多く、年齢別では50歳代、60歳代が多く、全体の67%を占めていた(表7)。発生部位では舌が最も多く、10例を数え、以下上顎洞9例、上下顎歯肉9例、頬粘膜2例、口腔底粘膜1例、下顎中心性2例であり、そのT分類はT<sub>2</sub>、T<sub>3</sub>症例が多く、全体の79%を占めていた。T分類は1978年のUICC案<sup>32)</sup>に基づいて行ったが、上顎洞に関しては酒井の分類<sup>36)</sup>に従った。下顎中心性癌は下顎骨内に遺残した歯堤上皮、エナメル上皮などの歯原性遺残上皮より発病したもので、通常の粘膜癌とはその性状が異なる<sup>37)</sup>ため分類不能とした(表8)。原発巣に術前治療(化学療法、放射線照射療法およびその併用療法)を施した後、原発巣切除術29例、頸部郭清術を33例に施行した。頸部郭清術により得られたリンパ節は430個であり、その内訳は転移のあるリンパ節80個、転移のないリンパ節350個で、UICCの頸部リンパ節レベル分類ではL<sub>2</sub>が転移、無転移合わせて143個と1番多く、以下L<sub>1</sub>の109個、L<sub>3</sub>91個、L<sub>4</sub>87個であった。リンパ節に転移

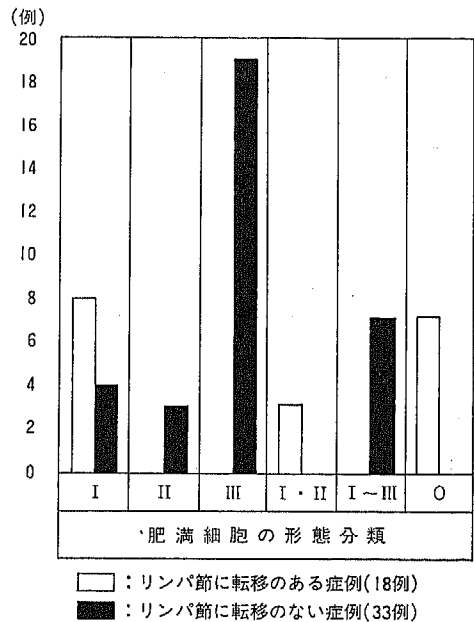


図2 口腔癌のリンパ節転移と肥満細胞の形態<sup>34)</sup>との関係

を持つ症例は18例であったが、そのレベルは口腔領域の第1所属リンパ節であるL<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>ならびに第2所属リンパ節であるL<sub>3</sub>に多くなっていた。1リンパ節あたりの平均TMC数はそれぞれのレベルで転移と無転移では著明な差があり、総計において転移リンパ節が1.4個であるのに反し、無転移リンパ節では12.3個と高値を示していた(表9)。TMCの節内分布は被膜、辺縁洞および中間洞を中心に局在していた。TMCの形態も無転移リンパ節では顆粒および核のはっきりしたIII型の占める症例が多く、33例中19例を数えたが、転移リンパ節を持つ18症例ではI型およびI、II型の混在が多くみられたほか、5視野中TMCが算出でき

なかった症例が7例もあり、転移に伴いTMCの形態に変化がみられた(図2)。33例の1981年12月31日時点の予後は生存15例、癌死15例、入院中1例、経過観察中1例、他病死1例であり、生存15例と癌死15例の摘出リンパ節数がそれぞれ189個と195個とほぼ同数であるにもかかわらず、TMC数は生存で2,831個、癌死で1,344個と生存に比し癌死に少なく、1リンパ節あたり平均TMC数でも生存で15.0個、癌死で6.9個を示した(表10)。

33例のうち原発巣の切除症例は29例であり、未切除の4例はすべて舌に発生したもので、そのT分類はT<sub>1</sub> 1例、T<sub>2</sub> 2例、T<sub>3</sub> 1例であった。この4例の治療法は、ラジュウム針刺入の照射単独3例、プレオマイシンの持続支配動脈内注入(以下持続動注と略す)と照

射の併用1例であり、これらの療法で原発巣は制御しえたと判断した。切除した29例の術前療法の内訳はプレオマイシンの持続動注単独9例、放射線照射単独10例、プレオマイシンの持続動注と照射の併用療法3例、5Fuの持続動注と照射の併用療法7例であった。なお、5Fuは抗癌効果よりむしろ放射線増感効果を期待して使用した(表11)。切除した原発巣周辺組織内のTMCはプレオマイシン使用群(12例)で単独、照射併用にもかかわらず、1症例あたりの平均TMC数は16個前後(16.4個、16.8個)を示していた。その反面、照射単独、5Fu併用の照射群(17例)のそれは、それぞれ6.0個、2.8個と低値を示していた(表12)。TMCの形態もプレオマイシン使用群でⅢ型を示す症例が12例中10例と多いのに反し、照射群ではⅠ型からⅢ型まではほぼ均等に分かれていた。未切除症例、他病死、経過観察中および入院中症例を除外した生存13症例さらに癌死13症例の予後と、術前治療がおよぼすTMCの変化との関係については、治療によりTMCが修飾されたため、明確な指標は得られなかった(表13)。

**B AH130 を用いた実験結果**

AH130細胞の浮遊したラット腹水0.05ml(約10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup> cells)を他のラットの上顎歯肉頬移行部に注入移植すると、注入局所の浸潤発育とともにリンパ節転移を開始する(図3)。転移は2~3個ある同側の頸下リンパ節より始まり、次第に内頸静脈に沿った深頸

表10 口腔癌のリンパ節内肥満細胞数と予後<sup>3)</sup>との関係

予後 症例数およびTMC数	生 存	癌 死
症 例 数*	15	15
肥 満 細 胞 数	2831	1344
リ ン パ 節 数	189	195
1リンパ節あたり 平均肥満細胞数	15.0	6.9

\* : 入院中, 経過観察中, 他病死各1例は除く。

表11 口腔癌の治療法別分類

治 療 法	原発巣切除例	原発巣未切除例	計
プレオマイシンの持続動注単独	9		9
照 射 単 独	10	3	13
プレオマイシンの持続動注+照射併用	3	1	4
5FUの持続動注+照射併用	7		7
計	29	4	33

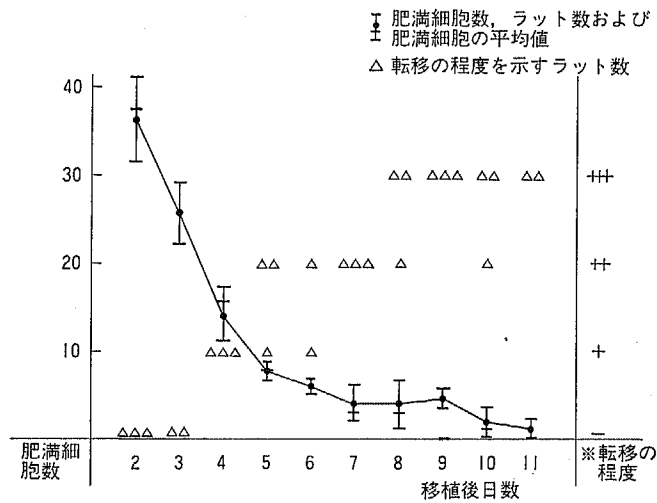
表12 口腔癌の治療法と肥満細胞数の関係(原発巣切除29例について)

治 療 法 (症例数)	原発巣間質内の 総肥満細胞数	(1症例あたり平 均肥満細胞数)
プレオ単独 (9)	147.2	(16.4)
照射単独 (10)	60	(6.0)
プレオ+照射 (3)	50.3	(16.8)
5FU+照射 (7)	19.4	(2.8)

表13 口腔癌の治療法と肥満細胞の形態<sup>34)</sup>ならびに予後<sup>31)</sup>との関係

治療法 (症例数)	肥満細胞の形態分類				備考
	I	II	III	○	
ブレオ単独 (9)			••••• ••••• △△△△△ ×××××	• ×	
照射単独 (10)	••••• △ ××	••••• △ ××	••••• △△	•	他病死, 経過観察中症例を除外
ブレオ+照射 (3)	• ×		•• △△		
5FU+照射 (7)		••••• ×××	••••• △△△		入院中症例を除外

• : 症例    △ : 生存症例    × : 癌死症例



※転移の程度

- : 転移がまったくみられないもの
- + : リンパ節洞に局限して転移がみられるもの
- ++ : リンパ節1/2が転移細胞により占められているもの
- +++ : リンパ節全体が転移細胞により占められているもの

図6 AH 130 移植後の肥満細胞の消長と転移の程度の関係

リンパ節や反対側の頸下リンパ節におよび, 平均14日で移植巣ならびに転移巣における腫瘍の拡大のため, ラットは腫瘍死する。AH 130 を用いた実験的研究における転移状況は, 虫本<sup>38)</sup> および高橋<sup>39)</sup> により詳述されているので, その詳細は省略するが, 本実験では移植後2日目のリンパ節の状態は, 多くの例でリンパ

小節および洞が良く保たれ, リンパ球の強い浸潤がみられた以外転移はまったくみられず, TMC は辺縁洞および中間洞にあり, その数は1リンパ節あたり平均36.5個を数えた(図4)。4日目になると, リンパ小節および洞は不鮮明となり, 多くの例で洞内に多数の移植腫瘍細胞が出現し(図5), その時のTMCは平



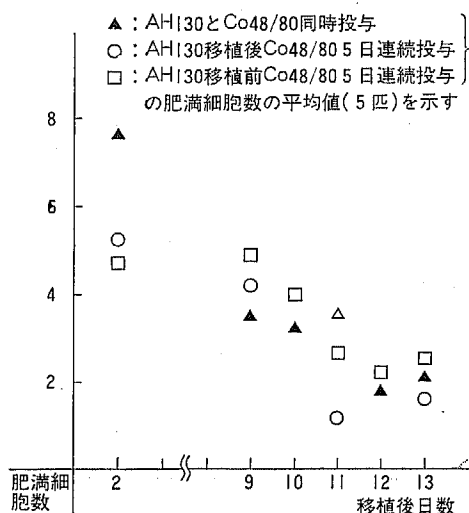


図7 Compound 48/80 併用時, AH130 移植後の肥満細胞の消長

均14.5個を数えた。以後、次第にTMCは減少して行く一方、転移の程度は高まり、5日目以降のリンパ節は1/2以上が転移細胞によって置換され、8日目以降のリンパ節ではほとんどすべてが転移細胞に置換され、多くの例でリンパ節の中心部より液化壊死が進行していた(図6)。Compound 48/80を同時に併用した時のTMCは2日目で平均7.6個/1リンパ節を示していたが、これはAH130単独使用時の36.5個/1リンパ節に比し約1/5の数値であった。AH130移植前compound 48/80を5日連続投与した群で、移植後2日目のTMCは平均4.9個/1リンパ節であり、5匹中3匹に早くも移植腫瘍細胞が出現し、AH130移植後compound 48/80 5日連続投与例、AH130同時投与例ならびにcompound 48/80非使用例に比し、転移の速度が早まっている傾向がみられた。しかしAH130移植後9日目以降のTMCは、compound 48/80の使用法による違いもみられず平均2~4個/1リンパ節であり、compound 48/80非使用例とほとんど差がなかった(図7)。

#### IV 考 案

TMCの本態は長い間不明のままであったが次第にその全貌が明らかにされ、ここ数十年にわたる形態学的、生化学的ならびに薬理学的研究の結果、その解明は飛躍的な発展をとげた<sup>1)-6)</sup>。形態学的には、胎生期、新生児期にわずかなDNA合成を行うが、加齢とともに

にDNA合成をまったく行わなくなり、そのかわりに化学物質を含有した顆粒の生成と、その脱顆粒現象(吐細胞現象)をくり返す特異な間葉系細胞であることが明らかにされた<sup>40)</sup>。

TMCを検出する染色法はいくつかあげられているが、最も頻用されているものにメタクロマジーを利用したトルイジンプルー法がある。これは胞体内顆粒中の強酸性粘液多糖類を特異的に染色する方法で、特に成熟した顆粒を鮮明に染め出し、いずれの部位のTMCにもその染色能力において優れている。手技的にも簡便であるが良好なトルイジンプルー染色標本を得るには、①染色温度が低いこと、②染色時間が短いこと、③水素イオン濃度が低いこと、④染色液濃度が低いことの4点が重要とされている<sup>41)</sup>。著者はpH 4.1、濃度0.05%および室温で5分間染色を行い良好な染色結果を得た。橋本と森本<sup>41)</sup>は検査部位の如何を問わず、TMCが最も多く染まるのは胞体内酵素であるLeder's esteraseを染色するnaphthol AS-D chloroacetate (Leder) 染色法であるとし、また、この方法は酵素の染色法であるため染色方法が複雑で細心の注意が必要であり、手技的にも難しいとしている。Spicer<sup>42)</sup>が考案したAlcian blue safranin 重染色法は、胞体内の未熟な顆粒(中性粘液多糖類)をAlcian blueで青染し、成熟した顆粒(強酸性粘液多糖類)をsafraninで赤染する。したがって、胞体内顆粒の成熟度をみるのには適しているが、検査部位、症例によっては染色性に多様性と不安定性を残すとしている。今回試験的に使用したhigh iron diamine-Alcian blue pH 2.5 (HID-AB pH 2.5)<sup>33)</sup>も強酸性粘液多糖類の染色に適した方法で、色調も鮮やかであるが、灰色ないしは黒色を呈していたため、トルイジンプルー染色に比しTMCの検出には若干の困難を伴った。

TMCの出現頻度の数的表現法として、①組織標本を一定倍率下に数視野観察して1視野平均TMC数を算出する方法、②標本全体を観察して観察者の主観で表現する方法、③標本全体のTMC数を測定して一定面積あたりに換算する方法がある<sup>13)</sup>。その中でTMCの出現が一般に低いこと、TMCの分布が不均等であるなどの理由により、③の方法が最も信頼性が高いとして多用されている。正確なTMCの分布状態を知るにはこの標本全体のTMC数を算出する方法が最も妥当と思われる。しかしこれも一切片上のTMC数を正確に算出しているにすぎず、連続切片にして摘出標本

全体を算定している訳ではない。著者は400倍拡大で5視野中のTMC総数を測定し、1症例あるいは1リンパ節あたり平均TMC数に換算しなおして比較検討を行った。この方法でTMCを観察している報告も多く、Lascano<sup>43)</sup>は675倍50視野、CawleyとHoch-Ligati<sup>44)</sup>は300倍20視野、Baroni<sup>45)</sup>は270倍10視野、Isaacson<sup>46)</sup>は400倍10視野中のTMC数を報告している。

TMCの形態は顆粒の生成、吐細胞現象に一致して分類されている。三好<sup>11)</sup>は正常型、刺激型、萎縮型の3型に、Combs<sup>47)</sup>はAlcian blue陽性とsafranin陽性の顆粒の成熟度によって4型に分けている。宝角<sup>13)</sup>は顆粒の量によりI、II、IIIの3型に、相馬<sup>48)</sup>は脱顆粒型、顆粒型、非顆粒型の3型に、宝来<sup>49)</sup>は成熟型(活動型)、萎縮型(非活動型)の2型に分類している。TMCの形態は吐細胞現象を行っているものを機能型、吐細胞現象を終了してしまったものを萎縮型、顆粒が密集して吐細胞現象を行おうとしているものを静止型と分類することができる。本研究中、I型は静止型を、II型は萎縮型を、III型は機能型を指しているものと思われる。すなわち、I型は細胞が比較的小型で、顆粒が密集充満しているため、胞体内は一色に近くなり、顆粒の性状、核の存在が明らかでなく濃縮像として見られるもの。II型は細胞自体の変形が著しく、胞体内に空胞化や顆粒の減少が目立ち、顆粒が細胞外へ吐出された後の細胞の変性像として見うけられるもの。III型はI型に比し、細胞も顆粒も大きいため染色状態が良好となり、顆粒や核がともに明瞭に観察できるものとされよう。

以下、本研究の結果について考察すると、

1) 口腔粘膜白板症について：口腔粘膜白板症は前癌病変として広く知られ、そのため口腔癌の発癌の過程を知るのに口腔白板症をとりあげた研究は数多い。Pindborgら<sup>50)</sup>、SilvermanとRosen<sup>51)</sup>、石川<sup>52)</sup>、天竺<sup>53)</sup>が白板症の悪性化に関して報告している。それによると悪性化率は報告者によって異なるが、5%より10%までの範囲である。悪性化の期間については、白板症の発生時期が不明なことが多いため意義は少ないとしながら<sup>52)</sup>も、必ずしも短期間で発癌するのではなく、悪性化因子が長期間作用した結果、癌化すると述べている。臨床視診像による悪性化率は、Pindborgら<sup>50)</sup>によるとspeckled typeで11例中7例が、SugarとBánóczy<sup>54)</sup>はspeckled typeに類似したleukoplakia erosivaで48例中13例が、天竺<sup>53)</sup>は

びらんや紅斑を伴う紅斑型で19例中6例が悪性化したとしている。病理組織学的に異形成ないし異角化を呈している白板症の悪性化率が高く、Pindborgら<sup>50)</sup>は11例中7例に、天竺<sup>53)</sup>は10例中7例が悪性化したとし、70%前後の頻度で癌化するものと思われる。本研究では、異形上皮を持った第4期の白板症4例中3例が平均6.7カ月後に悪性化した。この3例はともに紅斑型の臨床視診像を示し、癌化しなかった1例は白斑型を示していた。

異形上皮を持ち紅斑型の臨床視診像を示す白板症のすべてが癌化するわけではなく、他の要因としてリンパ球を主体とした間質の免疫応答が関与しているとも言われ、Lehner<sup>55)</sup>はリンパ球幼若化試験を行い、幼若化率の低下を認めている。しかし、リンパ球浸潤の高度な白板症4例中3例が癌化したという本研究の結果から、単にリンパ球浸潤の多少だけでは癌化の要因について説明することはできず、リンパ球以外の因子の存在も示唆された。本研究では、単なる白色角化症、前癌状態の白板症および癌化症例の3者間でTMCの数と形態に差が認められた。このことから、TMCは白板症の進展ならびに発癌の過程に何らかの関与をしているものと考えられた。

2) 頸部リンパ節転移について：口腔癌に限らず他のすべての領域の悪性腫瘍を治療する場合、転移リンパ節の処置いかんがその成績を左右する。本間<sup>56)</sup>は、代表的なリンパ節の反応形態を胚中心の過形成germinal center hyperplasia (GCH)、傍皮質の増生palacortical area hyperplasia-lymphocyte predominance (pH-L)、リンパ節洞組織球症sinus histiocytosis (SH)とに分け、そのうちGCH、pH-Lは転移状況とあまり関連がなく、高度なSHのみられたリンパ節に転移陰性例が多かったとしている。SHに関してはBlackら<sup>57)58)</sup>の報告以来、予後良好因子および転移抑制因子として重要視されて来た。SHにおいて増生している大型単核細胞は、現在、非特異的なcytotoxicityを有する活性化マクロファージと考えられ、また、リンパ洞内はマクロファージとリンパ球との情報交換の場で、リンパ系や血管系を介して全身に腫瘍免疫を成立させる役割を果たしていると言われている<sup>56)</sup>。一方、本研究において、TMCはSHと同じく、辺縁洞、中間洞の洞を中心に分布し、TMCが多い程、またTMCの細胞内顆粒が明瞭である症例程、転移が少なく、予後良好であり、TMCの減少、変性ならびに消失例では転移が多く、予後不良であった。

癌細胞がリンパ行性に転移をおこす時は、癌細胞の原発巣よりの遊離、リンパ管内侵入ならびに輸入リンパ管より辺縁洞への定着の過程をたどり、次第に中間洞、髓洞へ波及するとされ<sup>59)</sup>、洞内に分布する細胞群の反応が転移に影響することは当然予想される。

3) 術前治療に伴う原発巣内 TMC の変化について：口腔に発生する悪性腫瘍の多くは扁平上皮癌で、その治療法は放射線治療と外科的手術が主であった。しかし、1955年梅沢らによって発見されたプレオマイシンは、皮膚、口腔粘膜などに高濃度に分布し、しかもその部位で不活性化されないため、特に扁平上皮癌に卓効を示している<sup>60)</sup>。プレオマイシンの作用機序は、実質細胞の成熟化と分化度亢進が特徴で、基底膜の破壊、間質の障害は乏しいとされている<sup>61)</sup>。一方、放射線照射療法は癌実質のみならず間質にも影響し、癌病巣全体の変性、壊死、肉芽形成の過程をたどるとされ、間質にも障害がおよぶため、局所の免疫能の低下は現在、深刻な問題としてうけとめられている<sup>62)</sup>。本研究では、プレオマイシン使用群に比し、照射群で TMC 数が減少し、形態にも変化のみられた症例が多く、放射線照射療法による間質も含めた癌病巣全体の障害作用が如実に示されていた。今回の研究では、TMC 自体が治療により修飾されたため、予後との関連を明確に示す指標は得られなかったが、細胞内顆粒が明瞭に観察されたものに予後良好な症例が多かった。

4) AH130 を用いた実験的研究について：AH130 は1951年に我が国で確立され、現在まで継代されている腹水肝癌中もっとも古いものである。この腫瘍の特徴は腹水中では free cell type の増殖形を示し、皮下移植では腫瘍を形成して容易に周囲リンパ節へ転移するとされ<sup>63)64)</sup>、そのためリンパ節転移モデルの実験に頻用されている。腹腔内移植率は厳重な管理の下に行えば96~100%と高く、腹腔内以外の部位への移植率も Sakita<sup>65)</sup> はラット足部筋肉内に移植し90.2%の移植率を得、虫本は腫瘍細胞  $10^7$  個をラット上顎歯肉に接種して71.8%が移植され、その100%が頸部リンパ節へ転移したと報告している<sup>38)</sup>。高橋もラット睾丸内に  $10^4$  個以上接種することにより100%移植でき、100%が周囲リンパ節へ転移したとしている<sup>39)</sup>。著者の成績は腫瘍細胞  $10^5 \sim 10^6$  個で、腹腔内移植陽性率は97%、上顎歯肉移植陽性率は81.3%、転移率は100%であり、他の報告とはほぼ一致していた。腫瘍のリンパ節転移の経路は、リンパ行性と血行性が考えられ、リンパ行性転移はリンパ節の辺縁洞より始まり、血行性の

場合は傍皮質部より始まるとされる<sup>59)</sup>。本研究の少数例で転移部位が辺縁洞と傍皮質部にまたがっていたため、リンパ行性か血行性かの判断は困難であった。しかし大多数のラットでは、転移が辺縁洞より中間洞へ波及していたことから、本腫瘍の頸部リンパ節への転移経路は主としてリンパ行性が考えられた。

リンパ節郭清を行う際に、古くから治療的郭清術を行うべきか、予防的郭清術を行うべきか、意見が分かれて来た<sup>66)</sup>。本実験は、臨床的研究である口腔癌症例のリンパ節転移の結果をほぼ裏づけたが、脱顆粒により転移が早まるという事実は、TMC の転移抑制効果を逆に裏づけているものと考えられる。リンパ節内に洞組織球症や本研究のような TMC の反応がある以上、早期からの予防的リンパ節郭清は慎しむべきだろう。

## V 結 語

発癌、リンパ節転移などの口腔癌の進展における組織肥満細胞 (TMC) の役割を明らかにすることを目的として、口腔粘膜白板症20例、口腔扁平上皮癌33例の臨床切除標本に加え、ドンリュウラットに AH 130 を移植してリンパ節転移モデルを作り、その摘出リンパ節標本にトルイジンブルー染色を施し、数と形態の上から TMC を検討し、以下の結果を得た。

1) 白板症の上皮下結合組織中のリンパ球浸潤高度な症例は、前癌状態の白板症、癌化症例にみられ、TMC は反対にリンパ球浸潤高度症例では少なくなっており、リンパ球の浸潤程度と必ずしも相関していなかった。

2) TMC 数は白色角化症で多く、前癌状態の白板症、癌化症例では少なく、形態も細胞内顆粒の空胞化や破壊像などがみられた。

3) 頸部郭清術により得られた1リンパ節あたり平均 TMC 数は、転移リンパ節に対して、無転移リンパ節では高値を示した。形態も無転移リンパ節では顆粒の明瞭な症例が多い反面、転移リンパ節では顆粒の濃縮像、空胞化などがみられたほか、TMC が消失している症例が7例あった。

4) プレオマイシン使用群では TMC 数も多く、形態も顆粒の明瞭な症例が多かった。その反面、照射群では TMC 数も少なく、形態に変化のみられた症例が多かった。

5) AH 130 をドンリュウラット上顎歯肉頬移行部へ注入移植した実験結果では、転移が進むにつれて TMC は減少し、転移の程度と TMC は負の相関を有

していた。リンパ節転移は移植4日目以降にみられた。

6) AH130 移植前 compound 48/80 連続5日投与群の2日目の5匹中3匹に移植腫瘍細胞の出現がリンパ洞内にみられた。このことは脱顆粒に伴うTMCの減少は転移の速度を早めていると言えた。

7) TMCのリンパ節内分布は辺縁洞, 中間洞に多くみられ, その局在部位は, リンパ節の反応形態の一種であるリンパ節洞組織球症の分布部位に一致していた。

8) 口腔癌の原発巣の間質では, 術前治療によりTMCが修飾されたため, 症例の予後との関連を明確に示す指標は得られなかった。白板症症例, 口腔癌のリンパ節転移症例, およびAH130の実験的研究では, TMCが多い程また細胞内顆粒が明瞭な症例程, 癌化や転移が少なく, 予後良好であり, TMCの減少, 変性, 消失のみられた症例では, 癌化や転移が認められ, 予後は不良であった。このことから, TMCの検索によって口腔癌の進展や予後の判定がある程度できるの

ではないかと考えられた。

本研究の1部は第36回日本口腔科学会総会(1982年5月), 第38回日本口腔科学会総会(1984年5月), 第8回ヘパリン研究会(1984年7月), 第9回日本頭頸部腫瘍学会(1985年4月)において口頭発表した。

稿を終わるにあたり終始ご懇篤なる御指導, 御校閲いただいた当教室主任小谷朗教授, 第2病理学教室発地雅夫教授ならびに第2外科学教室飯田太教授に深謝します。また標本の作成などに御援助いただいた吉岡さち子前技官, 下枝祥枝技官に感謝するとともに文献の検索, 実験の援助, 資料の整理などに御協力いただいた上條憲子君ならびに教室員一同に感謝します。さらに, AH130を御提供下さった明治製菓株式会社薬理安全性研究所化学療法部(久松充室長)の皆様にも感謝します。

## 文 献

- 1) 矢村卓三, 森安昌次郎: マスト細胞. 臨床と研究, 44: 1463-1469, 1967
- 2) Fisher, E.R. and Fisher, B.: Role of mast cells in tumor growth. Arch Pathol, 79: 185-191, 1965
- 3) 富岡玖夫: 肥満細胞・好塩基球のケミカルメディエーター. 代謝, 15: 1671-1681, 1978
- 4) 馬場 実: アレルギーにおける Mast cell (肥満細胞) の意義について. 小児科, 5: 75-82, 1964
- 5) 竹岡 茂: 組織肥満細胞の研究. 京府医誌, 62: 71-86, 1957
- 6) Padawer, J.: Quantitative studies with mast cells. Ann NY Acad Sci, 103: 87-138, 1963
- 7) 石井英男: 鼻粘膜における組織肥満細胞の研究. 東京医学雑誌, 65: 13-25, 1957
- 8) Riley, J.F. and West, G.B.: The presence of histamine in tissue mast cells. J Physiol, 120: 528-537, 1953
- 9) Graham, R.M. and Graham, J.B.: Mast cells and cancer of the cervix. Surg Gynecol Obstet. 123: 3-9, 1966
- 10) Bowers, H.M., Mahapatro, R.C. and Kennedy, J.W.: Numbers of mast cells in the axillary lymph nodes of breast cancer patients. Cancer, 43: 568-573, 1979
- 11) 三好秋馬: 慢性胃炎—その分泌能と Mast cell およびいわゆる随伴胃炎の1, 2について. 臨床科学, 1: 595-604, 1965
- 12) 平 宏章: 良性軟部腫瘍における組織肥満細胞の出現状況. 福岡医誌, 72: 482-501, 1981
- 13) 宝角 衛: 剖検例骨髄の組織肥満細胞に関する研究. 九血会誌, 15: 218-259, 1965
- 14) Jadinski, J. J., Sonis, S. and Doku, H.C.: The incidence of mast cells in selected oral lesions. OS OM OP, 34: 245-248, 1972
- 15) 森本啓三: 口腔粘膜各種疾患における組織肥満細胞の反応態度. 日口科誌, 29: 44-81, 1980
- 16) 伊藤卓夫: 組織肥満細胞と悪性腫瘍との関係について. 名古屋医学, 76: 259-270, 1958
- 17) 小島国次, 竹島 竹: 肥満細胞, 殊に癌腫の間質における本細胞について. 日血会誌, 22: 618-625, 1959
- 18) Cramer, W. and Simpson, W.L.: Mast cells in experimental skin carcinogenesis. Cancer Res, 4: 601-616, 1944
- 19) Farnoush, A. and Mackenzie, I.C.: Sequential histological changes and mast cell response in skin during chemically-induced carcinogenesis. J Oral Pathol, 12: 300-306, 1983

- 20) Farnoush, A. and Mackenzie, I.C. : Proliferation of mast cells in normal and DMBA-treated mouse skin. *J Oral Pathol*, 13 : 359-365, 1984
- 21) Riley, J.F. : Mast cells and cancer in the skin of mice. *Lancet*, 2 : 1457-1459, 1966
- 22) Stonciuous, S.H., Ashrafi, S.H. and Meyer, J. : Ultrastructure of mast cells in the hyperplastic buccal mucosa of the zinc-deficient rat. *J Oral Pathol*, 14 : 375-382, 1985
- 23) Farram, E. and Nelson, D.S. : Mouse mast cells as anti-tumor effector cells. *Cell Immunol* 55 : 294-301, 1980
- 24) Norrby, K. : Effect of heparin, histamine on the density-dependent inhibition of replication in two fibroblastic cell lines. *Virchows Arch [Cell Pathol]*, 15 : 75-93, 1973
- 25) Hagmar, B. and Norrby, K. : Evidence for effects of heparin on cell surfaces influencing experimental metastasis. *Int J Cancer*, 5 : 72-84, 1970
- 26) Yoo, D., Lessin, L.S. and Jensen, W.N. : Bone-marrow mast cells in lymphoproliferative disorders. *Ann Intern Med*, 88 : 753-757, 1978
- 27) Prokocimer, M. and Polliack, A.L. : Increased bone marrow mast cells in preleukemic syndromes, acute leukemia and lymphoproliferative disorders. *Am J Pathol*, 75 : 34-38, 1981
- 28) Burch, P.R. : New approach to cancer. *Cancer*, 225 : 512-520, 1970
- 29) 西山茂夫 : 口腔粘膜疾患診療図説. 第1版, p.238, 金原出版, 東京, 1970
- 30) WHO collaborating center for oral precancerous lesions. : Definition of leukoplakia and related lesions. An aid to studies on oral cancer. *OS OM OP*, 46 : 518-524, 1978
- 31) 日本頭頸部腫瘍学会編 : 頭頸部癌取扱い規約. p.5, 金原出版, 東京, 1982
- 32) Harmer, M.H. : TNM classification of malignant tumors. 3rd ed., pp.7-19, UICC, Geneva, 1978
- 33) Spicer, S.S. : Diamin methods for differentiating mucosubstances histochemically. *J Histochem Cytochem*, 13 : 211-234, 1965
- 34) 小代正隆, 竹之下満, 西 満正 : リンパ行性転移と肥満細胞. *リンパ学*, 4 : 119-120, 1981
- 35) 天笠光雄, 道 健一, 斉藤健一, 上野 正 : 口腔白板症の臨床分類について. *日口外誌*, 23 : 89-96, 1977
- 36) 酒井俊一 : 上顎癌一鼻・副鼻腔悪性腫瘍. 第1版, p.52, 金原出版, 東京, 1974
- 37) 武田 進, 木村茂夫, 倉科憲治, 田中 寿, 田村 稔, 峯村俊一, 山田元彦, 吉沢邦一, 山崎 正, 山岸久平, 望月公子, 小谷 朗 : 下顎中心性扁平上皮癌の2例. *日口科誌*, 30 : 111-120, 1981
- 38) 虫本浩三 : 腫瘍の転移に関する実験的研究. *歯科医学*, 32 : 487-507, 1973
- 39) 高橋俊雄 : リンパ行性転移形成の機序とその対策. 癌の臨床, 20 : 739-745, 1974
- 40) 村田長芳, 百瀬由利子, 吉田啓三, 永田哲士 : 成熟ラット腹腔肥満細胞の核における <sup>3</sup>H-thymidine のとり込み. *信州医誌*, 25 : 72-77, 1977
- 41) 橋本紀三, 森本啓三 : 組織肥満細胞に対する特殊染色法の比較検討. *九血会誌*, 27 : 25-36, 1979
- 42) Spicer, S.S. : Histochemical properties of mucopolysaccharide and basic protein in mast cells. *Ann NY Acad Sci*, 103 : 322-333, 1963
- 43) Lascano, E.F. : Mast cells in human tumors. *Cancer*, 11 : 1110-1114, 1958
- 44) Cawley, E.P. and Hoch-Ligati, C : Association of tissue mast cells and skin tumors. *Arch Dermatol*, 83 : 92-96, 1961
- 45) Baroni, C. : On the relationship of mast cells to various soft tissue tumors. *Br J Cancer*, 18 : 686-691, 1964
- 46) Isaacson, P. : Mast cells in benign nerve sheath tumors. *J Pathol*, 119 : 193-197, 1976
- 47) Combs, J.W. : Maturation of rat mast cell-an electron microscope study. *J Cell Biol*, 31 : 563-575, 1966
- 48) 相馬昭彦 : 各種呼吸器疾患における内視鏡的並びに臨床病理学的研究—気管支生検による肥満細胞を中心として. *信州医誌*, 19 : 45-59, 1971
- 49) 宝来善次, 道沢常裕, 金田正之 : 実験的肺線維症における肥満細胞の分布に関する研究. *奈医誌*, 20 : 284-289, 1969

- 50) Pindborg, J. J., Renstrup, G., Poulsen, H. E. and Silverman, S. : Studies in oral leukoplakias. Clinical and histological signs of malignancy. *Acta Odont Scand*, 21 : 407-414, 1963
- 51) Silverman, S., Jr. and Rosen, R. D. : Observations on the clinical characteristics and natural history of oral leukoplakia. *JADA*, 76 : 772-779, 1968
- 52) 石川梧郎 : 口腔白板症について. *口病誌*, 38 : 1-11, 1971
- 53) 天笠光雄, 戸塚盛雄, 増尾勝己, 永井謙次, 清水正嗣, 塩田重利, 道 健一, 齊藤健一 : 口腔白板症の臨床型, 治療法と予後に関する研究. 特に白板症の悪性化について. *日口外誌*, 24 : 243-252, 1978
- 54) Sugar, L. and Bănăncy, J. : Follow up studies in oral leukoplakia. *Bull WHO*, 41 : 289-293, 1969
- 55) Lehner, T. : Immunopathology of oral leukoplakia. *Br J Cancer*, 24 : 442-446, 1970
- 56) 本間義郎 : 口腔癌の頸部リンパ節転移に関する研究. *日口外誌*, 28 : 1667-1684, 1982
- 57) Black, M. M., Kerpe, S. and Speer, F. D. : Lymph node structure in patients with cancer of the breast. *Am J Pathol*, 29 : 505-521, 1953
- 58) Black, M. M. and Speer, F. D. : Sinus histiocytosis of lymph nodes in cancer. *Surg Gynecol Obstet*, 104 : 163-175, 1958
- 59) Sato, H. : Experimental studies on the mechanism of metastasis formation. *Acta Pathol Jpn [Suppl]*, 9 : 685-692, 1959
- 60) Umesawa, H., Maeda, K., Takeuchi, T. and Okumi, Y. : New antibiotics, bleomycin A and B. *J Antibiot (Tokyo)*, 19 : 200-209, 1966
- 61) 高崎 敬 : 上顎癌に対する化学療法の臨床的並びに病理組織学的研究. *日耳鼻*, 74 : 31-49, 1971
- 62) 癌の臨床編集委員会編 : 癌・放射線療法. 癌の臨床別刷. 第1版, pp. 89-94, 金原出版, 東京, 1978
- 63) Sato, H. and Aruji, H. : Studies on the ascites hepatoma. *Gann*, 43 : 254-257, 1952
- 64) Yoshida, J. : Contributions of the ascites hepatoma to the concept of malignancy of cancer. *Ann NY Acad Sci*, 63 : 852-881, 1956
- 65) Sakita, S. : An experimental study on the behavior of metastasized regional lymph node after removal of the primary tumor. *日本外科宝函*, 33 : 153-177, 1964
- 66) Kurokawa, Y. : Experiments on lymph node metastasis by intralymphatic inoculation of rat ascites tumor cells, with special reference to judgment, passage and growth of tumor cells in lymph nodes. *Gann*, 51 : 416-471, 1970

(61. 1. 21 受稿)